

卒業論文要旨

ゼブラフィッシュ Sox3 タンパク質の標識におけるエピトープタグの評価

三浦 陽大

Evaluation of epitope tags for zebrafish Sox3 labeling

Haruto Miura

Sox3 は SoxB1 ファミリーに属する転写因子であり、脊椎動物における中枢神経系の神経前駆細胞の維持に重要な役割を果たすことが知られている。ゼブラフィッシュは胚発生の解析に優れたモデル生物であり、Sox3 の発現制御や機能の理解は神経発生機構の解明に役立つ。一方 Sox3 は発現量が低いため、その発生段階や組織に特異的な内在性タンパク質の発現を高感度かつ特異的に検出し、機能を解析することが困難である。その解決策としてタグの利用が考えられるが、タグの種類により検出の感度は異なり、またタンパク質の安定性や機能に影響を与える可能性があるため、タンパク質ごとに適切なタグを選択することが重要である。そこで本研究ではゼブラフィッシュ Sox3 を対象にしてタグの比較を行った。まずエピトープタグとして FLAG、PA、VS、Ty1、HA、HA_v2、Myc (三量体)、および OLLAS、ALFA (二量体) を含む 9 つの複合タグが付加された Sox3 をコードするプラスミドを作成した。これを鋳型として mRNA を調製し、それらをゼブラフィッシュ胚に顕微注入した。受精後 9 時間の胚からタンパク質を調製し、複合タグに共通する HiBiT タグ抗体を用いてウェスタンブロットを行い Sox3 タンパク質を検出した。その結果、FLAG、PA、VS、Ty1、Myc では明瞭なバンドが確認できたが、HA、HA_v2、OLLAS、ALFA では弱いバンドしか検出できなかった。このようなタグが発現量に与える影響が一般的であるかを調べるため、現在 GFP にタグを付加した場合の発現量の変化を調べている。